






**SENSOR DEVICE FOR SELECTIVELY DETECTING, MEASURING OR MONITORING  
PREDETERMINED MOLTEN SUBSTRATE****Publication number:** JP60017344**Publication date:** 1985-01-29**Inventor:** HIGGINS IRVING JOHN; MCCANN JAMES MICHAEL; DAVIS GRAHAM; HILL HUGH ALLEN OLIVER; ZWANZIGER RON; TREIDL BERNHARD LUDWIG; BIRKET NIGEL NORMAN; PLOTKIN ELLIOT VERNE**Applicant:** GENETICS INT INC**Classification:****- international:** **G01N27/28; A61B5/00; A61B5/145; A61B5/1486; C12Q1/00; C12Q1/68; G01N27/27; G01N27/30; G01N27/327; G01N27/403; G01N27/416; G01N33/487; G01N27/28; A61B5/00; A61B5/145; C12Q1/00; C12Q1/68; G01N27/27; G01N27/30; G01N27/327; G01N27/403; G01N27/416; G01N33/487; (IPC1-7): G01N27/28; G01N27/30; G01N27/46****- european:** A61B5/00R2; C12Q1/00B; C12Q1/00B4; C12Q1/68B2H; G01N27/403B; G01N33/487B**Application number:** JP19840090832 19840507**Priority number(s):** GB19840005263 19840229; GB19840005262 19840229; GB19840000650 19840111; GB19830033644 19831216; GB19830023799 19830906; GB19830012262 19830505; GB19830012261 19830505**Also published as:** EP0351892 (A2)  
 EP0351891 (A2)  
 EP0127958 (A2)  
 JP9325127 (A)  
 JP2000055865 (A)

more &gt;&gt;

**Report a data error here**

Abstract not available for JP60017344

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

## ⑫ 公開特許公報 (A)

昭60—17344

⑤ Int. Cl.<sup>4</sup>  
G 01 N 27/30  
27/28  
27/46

識別記号

庁内整理番号  
E 7363—2G  
7363—2G  
A 7363—2G

④ 公開 昭和60年(1985)1月29日  
発明の数 13  
審査請求 未請求

(全 22 頁)

⑭ 所定溶解基質を選択的に検出、測定またはモニタするセンサ装置

⑮ 特 願 昭59—90832

⑯ 出 願 昭59(1984)5月7日

優先権主張 ⑰ 1983年5月5日 ⑱ イギリス (GB) ⑲ 8312261

⑳ 発 明 者 アービング・ジョン・ヒギンス  
イギリス国ベッドフォード・エム・ケイ43 2 キュージー・ウィルデン・バーフォード・ロード・ライオン・フィールド (番地なし)

㉑ 発 明 者 ジェイムズ・マイケル・マツカ

— ン

イギリス国ロンドン・ダブリュ  
14 0 イー・エス・ウエスト・  
ケンジントン・デワースト・ロ  
ード33

㉒ 出 願 人 ジエネティックス・インターナ  
ショナル・インコーポレーテッ  
ド

アメリカ合衆国マサチューセツ  
ツ州02109ボストン・ファイフ  
ティーンズ・フロア・ミルク・ス  
トリート50

㉓ 代 理 人 弁理士 杉村暁秀 外1名  
最終頁に続く

## 明 細 書

1. 発明の名称 所定溶解基質を選択的に検出、  
測定またはモニターするセンサ  
装置

## 2. 特許請求の範囲

- 溶解基質の混合物中の所定溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサ装置において、  
(a) 前記基質の触媒酵素および酵素が触媒作用する場合に互いに接触しないで隣接する電極に電荷を輸送するメディエータ化合物からなる第1電極材料区域、および  
(b) 参照電極材料の区域からなり、これら両電極は寸法が小さく、細長い部材として冤罪するか、または該部材上に支持して生じている組織または少量の体液の採取試料と接触前または接触中操作しやすくするように構成したことを特徴とする所定溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサ装置。
- 第1電極材料の区域は(a) 抗体の如きリガ

ンド、(b) 該リガンドに特異結合特性を有するヘプタンの如きアンチリガンド、および  
(c) 、(a) または(b) にコンジュゲイトし、かつ(a) および(b) が特異的に結合しない場合には電気化学的に作用するメディエータ化合物からなる特許請求の範囲第1項記載のセンサ装置。

- 酵素触媒反応を受ける1または2種以上の選択成分の惣菜を検出、分量を測定および/またはレベルをモニターする成分の液体混合物と接触させるセンサにおいて、  
(a) 細長い支持部材；  
(b) 前記支持部材の一側面のその一端に設けられた、少なくとも外面における酵素および該酵素が触媒的に作用する場合に第1電極に電子を輸送するメディエータ化合物の組合せからなる電氣的導電性材料の第1電極の区域、  
(c) 前記細長い支持部材の一側面のその一端に設けられた第2 (参照) 電極の区域、および

- (d) 前記支持部材を浸漬して両電極を接触する液体媒質中の1または2種以上の選択成分の存在、分量またはモニターレベルを表示する読み取り装置に取付ける各電極に対する分離電気接続から構成したことを特徴とする液体混合物と接触させるセンサ。
4. (a) 体の先端部分の針-突き刺しから発生する血液の非圧搾滴から生ずる血液の塗抹により完全に被覆するのに十分小さい知られた区域の平坦な第1電極区域、  
 (b) 前記血液塗抹を参照電極に達成させて電気的に連通する感受性電極から分離するが、しかし十分に接近する同じ表面上の参照電極区域、および  
 (c) 細長い支持部材の同じ表面に沿って延在し、該部材の一端に取付ける信号読み取り装置に接続する各電極を互いに連通させる分離導電素子から構成したことを特徴とするセンサ装置。
5. 第1区域を正方形にした特許請求の範囲第4項記載のセンサ装置。
6. 第1区域を25 mm<sup>2</sup> 以下にした特許請求の範囲第4項記載のセンサ装置。
7. 組織を通して血管のような測定位置に配置し、先端近くに長さ方向に離間する2つの平坦くぼみを有する一般に円筒状の先端を有する針の形状をし、針半径に直角の床および該床の各端に保護肩部を有する各くぼみを設け、かかる1つのくぼみの床を酵素、および特異基質と接触し、触媒的に作用する場合に電荷を酵素から輸送するメディエータ化合物からなる接着層で被着し、他のくぼみの床を接着参照電極層で被覆し、分離導電素子を針の表面に沿って延在させ、針の外端に取付ける信号読み取り装置に接続するために各電極層を連通するように構成したことを特徴とする針プローベ電極キャリアー。
8. 溶解基質の混合物中の所定溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサにおいて、電極に前記基質の触媒酵素、および電荷を電極に輸送し参照電極に対する読み取り信号を生じさせるメディエータ化合物を被着し、感受性電極および参照電極を矩形断面の細長い非導電性支持体の対向面上に配置して構成したことを特徴とする所定溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサ。
9. 電極および針を比較的に長さ方向に移動させるようにした特許請求の範囲第8項記載のセンサ。
10. 感受性電極を酵素およびメディエータを含む被覆を有する炭素繊維とする特許請求の範囲第8項記載のセンサ。
11. 参照電極材料を銀、金または銀/パラジウムとした特許請求の範囲第8, 9または10項記載のセンサ。
12. 溶解基質の混合物中の所定溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサにおいて、電極に前記基質の触媒酵素、および電荷を電極に輸送し参照電極に対する読み取り信号を生じさせるメディエータ化合物を被着し、感受性電極および参照電極を矩形断面の細長い非導電性支持体の対向面上に配置して構成したことを特徴とする所定溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサ。
13. 支持体は0.5 mm<sup>2</sup> 以下の正方形断面を有する特許請求の範囲第12項記載のセンサ。
14. 中空針と組合せた特許請求の範囲第12項記載のセンサ。
15. 感受性電極および参照電極を別々の支持体上に別々に形成し、これらの支持体を合体させて成形した特許請求の範囲第12項記載のセンサ。
16. 1つの細長い電極に連通する細長いくぼみ、導電性支持体上の酵素および電荷輸送メディエータからなる第1電極、および参照電極である第2電極からなり、対向するくぼみで組合せた場合に各構成部分が離間して配置する電極間に液体チャネルを画成し、これにより組合せ体がチャネルを通る酵素の基質に敏感であるように構成したことを特徴とする2部

分・セル組立体。

17. 医療に役立つ診断としての読取り値を生じさせるのに用いる回路および表示装置組立体において、
  - (a) ペン型細長い中空外部ハウジング；
  - (b) 前記ハウジングの一端で受ける導電性ソケットおよび前記ハウジングの他端で受ける生理学的試験液体と接触した場合に生理学的パラメータに関連する電気信号を生ずることのできる少なくとも1個の使い捨て試験部材および
  - (c) 前記パラメータに相当する数値を示す前記ハウジングの他端に向うデジタル読取り窓から構成したことを特徴とする回路および表示装置組立体。
18. 長さ12～20 cmおよび最大横寸法0.8 ～1.5 cmである特許請求の範囲第17項記載の組立体。
19. 試験部材としてインパシブ針ブローベと組合せた特許請求の範囲第17項記載の組立体。
20. 血液滴のための外部—非インパシブ試験部

ストリップ試験電極キャリア（Ⅱ）とから構成したことを特徴とする表示装置および試験電極キャリアの作動組合せ体。

22. 液体混合物の1または2種以上の選択成分の存在を検出、分量を測定およびレベルをモニターする分析装置において、

小容積の液体チャンバーと合体するセル部分、該セル部分の少なくとも1個には液体入口およびかかる部分を組立てる場合に上記チャンバーと連通する出口を設け；

前記液体混合物を入口装置に流し、かつ連続的にまたは不連続的に出口装置から排出する選択的作動ポンプ；

導電性材料の細い区域の形状を有し、かつ少なくとも外面の酵素、および該酵素が接触作用する場合に電子を電極に輸送するメジエータ化合物の組合せからなる第1電極；

導電性材料の細い区域の形状を有する第2（参照）電極；

前記小容積の液体チャンバー内の作動表

材として平坦ストリップ電極と組合せた特許請求の範囲第17項記載の組立体。

21. (a) ペン型細長い中空ハウジング；
- (b) 使い捨てストリップ電極を受けるのに適当な前記ハウジングの一端の導電性ソケット；および
- (c) グルコースレベルに相当する数値を示す前記ソケットに接続する前記ハウジングの他端のデジタル読取り窓からなる糖尿病の治療または制御における診断酸として血液グルコースレベルの読取り値を生じさせるのに用いる回路および表示装置組立体（Ⅰ）と、(a) グルコース触媒酵素およびメタロセンメディエータからなり血液グルコースレベルに敏感である25 mm<sup>2</sup> 以下の区域の平坦電極；
- (b) 互いに接触しないが、前記感受性電極に隣接する参照電極；および
- (c) ソケットに接続するために各電極と互いに連通するストリップ沿ってに延在する分離導電部材からなるソケットの一端に保持した

面を与える前記各電極；

電極間の予定電圧差を平衡させるポテンシオスタッド；

液体試料をチャンバーに導入する場合に、電極間の電流を検出または測定する装置；および

電流を測定する装置に作動的に接続する信号蓄積および／または読取り装置とから構成したことを特徴とする分析装置。

23. 電極の電気出力を電子基準と比較する装置、および電極の電気出力に関する信号を生じさせる装置から構成したことを特徴とする電子輸送電極と用いる測定装置。
24. 電子輸送電極を参照電極に対する固定電位で平衡させ、電子輸送電極における電流を測定する特許請求の範囲第23項記載の測定装置。
25. 参照電極をAg/AgCl電極とした特許請求の範囲第1, 2, 3, 4, 7, 12, 16 および22項のいずれか一つの項記載のセンサ。
26. 酵素をグルコース酵素とした特許請求の範

- 図第1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 12, 16および22項のいずれか一つの項記載のセンサ。
27. メディエイトをフェロセンとした特許請求の範囲第1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 12, 16および22項のいずれか一つの項記載のセンサ。
28. メディエイトを1,1'-ジメチルフェロセンとした特許請求の範囲第1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 12, 16および22項のいずれか一の項記載のセンサ。
29. 第1電極材料は(a) 抗体の如きリガンド、(b) 該リガンドに対して特異結合特性を有するヘプタンの如きアンチリガンド、および(c) , (a) または(b) にコンジュケイトし、かつ(a) および(b) が特異的に結合しない場合には電気化学的に作用するメディエイトからなる特許請求の範囲第3, 4, 7, 8, 10, 12, 16および22項のいずれか一つの項記載のセンサ。
30. (a) 酵素および/または(b) 該酵素が触媒的に作用する場合に酵素から炭素に電荷を輸

送するメディエイト化合物と共に炭素の液体媒質中に懸濁し、電極の製造に使用する場合に印刷性で導電性インキとして形成できる炭素液体媒質懸濁物。

31. 酵素およびメディエイトを存在させた特許請求の範囲第30項記載の炭素液体媒質懸濁物。
32. 酵素をグリコースオキシダーゼとし、メディエイトをフェロセンとした特許請求の範囲第30項記載の炭素液体媒質懸濁物。
33. メディエイト/ヘプタンコンジュケーターからなる特許請求の範囲第30, 31または32項記載の炭素液体媒質懸濁物。
34. テオフィリン/フェロセンコンジュケーターからなる特許請求の範囲第31, 32または32項記載の炭素液体媒質懸濁物。
35. 貴金属電極に適当であり、硫黄含有フェロセン誘導体からなり、フェロセン化合物を貴金属に直接に結合させるのに用いる電極浸漬または接触溶液。
36. 前記誘導体をフェロセン環に直接に、また

は介在アルキレン鎖によりフェロセン環に結合したチオール基を有する硫黄-結合フェロセン誘導体とし、金電極用として用いる特許請求の範囲第35項記載の電極浸漬または接触溶液。

### 3. 発明の詳細な説明

本発明はセンサ電極；これと参照電極との組合せ；これらの電極の製造；これらの電極からなる装置；並びにこれらの電極を含む電気回路に関する。

本出願人が提出したヨーロッパ特許出願第32305597号明細書には触媒活性酵素およびメディエイト化合物混合物または層で被覆した、通常は更に保持透過膜で被覆した導電電極からなるセンサの構造が記載されている。かかる被覆電極を酵素が触媒作用を発揮する種(species) を含有する基質と接触する場合に、メディエイト化合物は電荷を電極に輸送し、この事は、酵素が触媒作用において著しく選択作用を示すから他の種が存在したとしても、上述する触媒作用を発揮する種

の濃度に関して標準電極に対して読取り信号を与えるように用いることができる。

前記システムにおける研究および使用されている酵素については本明細に後で示す。

それ故、多くのタイプの酵素被覆電極は生理学的または他の基質の存在に対する各特異性を利用しており、この場合、特定酵素は触媒として作用し、このためにこれらは生体内または試験管内において基質のレベルを検出、測定またはモニターするように潜在的に作用でき、例えば基質レベルを制御または作用する下層生理学的条件と関連する読取りを与える。特に、適当な電子輸送メディエイト化合物と関連する酵素としてグルコースオキシダーゼまたは細菌性グルコースデヒドロゲナーゼを使用することについては糖尿病性条件についての診断または測定具を与える広範囲にわたる試験管内血液グルコースレベルと直線的に関連する読取り信号を与えることだ知られている。また、電極は血漿、血清、間質性流体(interstitial fluid)、唾液または尿のグルコース

レベルを測定することができる。

本出願人の関連する上記特許出願に記載しているメディエイト化合物としてはポリビオロゲン、フルオラニルおよびクロラニルを包含している。しかしながら、好ましいメディエイト化合物はメタロセン化合物、特にフェロセン（ビスシクロペンタジェニル鉄およびその誘導体）である。

フェロセンの特別の利点としては、すなわち、(a) シクロペンタジェニル環の置換を介して容易にしやすいレドックス電位の広い範囲、(b) 例えば、他の環または他のシステム成分に対する溶解度または化学結合性を与える環の官能化、(c) 電気化学的に可逆性の1電子レドックス特性、(d) pH-独立レドックス電位、および(e) 還元形の遅い自己酸化である。

フェロセン構造は環の置換により、および/または結合または重合によって変えることができ、この変性は物理的、化学的および選択挙動を示し、このために特定センサ電極材料の最適化を可能にする。一般的使用において、化合物 1,1'-ジメ

チルフェロセンは有効なメディエイトである。

「特異性結合剤を用いる分析技術」の名称の本出願人の関連特許出願は特異性結合剤、すなわち、抗原/抗体およびその他の酵素および/またはメディエイト電気化学的有効性についての影響に関する。特別の電極について実施することができる。この電極は本発明の範囲に存在し、後で説明する。

上述する従来技術にはセンサ電極を使用する装置について記載されている。一般に、研究または公共施設（病院）において使用するのに適当である。本発明は患者(lay persons)によって、または広い技術指導を受けることなく使用できるセンサ電極および装置に関する。

このセンサ電極は、特に錯体混合物(complex mixture)に遭遇する化学工業、例えば食品化学または生物化学技術に用いることができる。しかし、かかる電極は生物学的研究または人体または動物医薬における制御技術に特に有効である。

本発明においては患者にまたは臨床に用いるためのかかる電極の応用においてある設計標準を確

立した。

電極はインバシブ プローベ(invasive probe)（例えば全血液または皮下組織流体のような体液(body fluid)と接触する体組織に進入するプローベ）に、または抜取試料（注射器を使用する）または圧搾試料（例えば針-突き刺し装置(needle-prick device)を使用する）についての外部試験の一部として用いることができる。いずれの場合においても、電極は組織に進入する際または試料の抜取において外傷の形成するのを避けるように実際的に小さくする。進入させる場合には、交差汚染を避けるようにし、および長期間差し込むことにより生ずる線維芽細胞による被包を抑制するようにする。電極は先端を有する針(pointed needle)内に固定するように長くするか、または装置に組立て、他の試料と接触する電極として取扱いできるように長くする。また、機敏に操作できるようにする。組立前または組立構造において参照電極並びに感受性(sensitive)電極を離間した非接触関係に設ける。

本発明の溶解基質の混合物において与えられた溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサ装置は、

(a) 基質の触媒酵素および酵素が触媒的に作用する場合に互いに接触しないで隣接する電極に電荷を輸送するメディエイト化合物からなる第1電極材料区域；および

(b) 参照電極材料区域からなり、これら電極は寸法が小さく、細長い部材として延在するかまたは該部材上に支持して生きている組織または少量の体液の抜取り試料と接触前または接触中操作しやすくすることを特徴とする。

第1電極材料区域は(a) 抗体のようなリガンド、(b) 特異結合特性を有するハプテンの如きアンチリガンド、および(c)、(a) または(b) にコンジュゲイトし、かつ(a) および(b) が特異的に結合しない場合には電気化学的に作用するメディエイトからなる。かかる電極は(a) および(b) が少なくとも1部分結合しないシステムのアッセ(assay)に利用し、これによって酵素/基質反応について

のメディエータを得ることができる。

あるいは、また第1電極区域は(a) 抗体の如きリガンド、(b) 該リガンドに特異結合特性を有するヘプタンの如きアンチリガンド、および(c) リガンドおよびアンチリガンドが結合しない(b) のみにコンジュゲイトするメディエータからなる。この電極はシステムに加える生物学的流体中のアンチリガンドを電極上でメディエータ コンジュゲイテッド アンチリガンドによりリガンドの結合位置を完成する。電極の精製電気化学的活性度は遊離リガンドを残留するアンチリガンド/メディエータ コンジュゲイトの量の関数である。

センサは、一般に外部センサ(external sensors)、差込みセンサ(invasive sensors)、二重コンデンサを有するセンサおよびその場で組み立てるセンサに再分することができる。

#### A. 外部センサ

このセンサは主として両電極を液体基質、例えばグルコースを含有する少量の血液試料または血液の滴に浸漬または接触するのに用いられる。

第1電極は炭素、例えば炭素を含有する濾紙から形成するのが好ましい。また、本発明においては炭素箔、例えば登録商標「グラホイル(GRAPHOIL)」または「パピエックス(PAPAYEX) で入手しうる有用な電極材料である。酵素としては任意の酵素、例えば本出願人がすでに出願した上述するヨーロッパ特許出願に記載している酵素をあげることができるが、グルコース オキシダーゼまたはデヒドロゲナーゼ、例えばアシネトバクター・カルコアセテカウス(Acinetobacter calcoaceticus)からの細菌グルコース デヒドロゲナーゼが特に有効である。任意適当なメディエータ化合物を用いることができるが、しかしフェロセンまたはその誘導体(特に 1,1'-ジメチルフェロセン)が特に好ましい。

1例としては、炭素箔をストリップに接着でき、1,1'-ジメチルフェロセン メディエータをトルエン溶液の蒸発によって箔の表面に堆積することができる；酵素は1-シクロヘキシル-3-(2-モリホリノエチル)カルボジイミド メト- p

本発明の1つの観点において、本発明は酵素触媒反応を受ける1または2種以上の選択成分の存在を検出、分量を測定および/またはレベルをモニターする成分の液体混合物と接触させるセンサにおいて、

(a) 細長い支持部材、

(b) 前記支持部材の一側面のその一端にもうけられた少なくとも外面における酵素、および該酵素が触媒滴に作用する場合に第1電極に電子を輸送するメディエータ化合物の組合せからなる導電性材料の第1電極の区域、

(c) 前記細長い支持部材の一側面のその一端に設けられた第2参照電極の区域、および

(d) 前記支持部材を浸漬して両電極を接触する液体媒質中の1または2種以上の選択成分の存在、分量またはモニター レベルを示す読取り装置に取付ける各電極に対する分離電気接続から構成する。

細長い支持部材は棒または管体にすることができるが、一般には平坦なストリップからなる。

ートルエン スルホネート(以下「カルボジイミド」と略称する)の使用によって表面に結合することができる。

第2電極は任意の通常の参照電極にすることができる。本発明においては第1電極に隣接させるが、しかし接触させないように銀の平坦層を設け、その表面を塩化銀に転化させてAg/AgCl参照電極を与えるようにすることが有利であることを確かめた。

電気接続としては、例えば非延伸性のワイヤを用いることができ、この接続はストップに粘着するのが好ましく、かつその個々の電極と電気接点を形成する。

読取り装置は、例えばグルコース システムの場合には+150mV Ag/AgClで炭素電極電位を平衡させるポテンシオスタッドに適当に接続するデジタル表示器が好ましい。次いで、電流をグルコース濃度に比例させる。

このタイプのセンサの、特に効果的な変形構造は、(a) 体の先端部分の針-突き刺し(needle-

prick)から発生する血液の非圧搾滴から生ずる血液の塗抹により完全に被覆するのに十分小さい知られた区域の平坦な第1電極区域、(b) 前記血液塗抹を参照電極に達成させて電氣的に連通する感受性電極区域から分離するが、しかし十分に接近させる同じ表面上の参照電極区域、および(c) 細長い支持部材の同じ表面に沿って延在し、該支持部材の一端に取付ける信号読取り装置に接続する各電極を互いに連通させる導電素子から構成する。

第1(すなわち、感受性(sensitive)電極の区域は、一般にほぼ正方形であり、また長方形にすることができ、または通常如何なる場合においてもエッジ長さ5mmまたはこれ以下、例えば2~4mmの正方形に相当するように形成することができる。

#### B. インパシブ センサ

一般に、性質上、針状であり、中空針内に設ける。

この観点において、本発明は組織を通して血管

のような測定位置に配置し、先端近くに長さ方向に離間する2つの平坦くぼみを有する一般に円筒状の先端を有する針の形状をし、針半径に直角の床および該床の各端に保護肩部を有する各くぼみを設け、かかる1つのくぼみの床を酵素、および特異基質と接触し、接触的に作用する場合にメディエータ化合物からなる接着層で被着し、他のくぼみの床を接着参照電極層で被覆し、分離導電素子を針の表面に沿って延在させ、針の外端に取付ける信号読取り装置に接続するために各電極層を連通するように構成する。一般的な記載から明らかなように、1形状では感受性および選択電極はメディエータ化合物としてフェロセン等と関連するグルコース ヒドロゲナーゼ(またはオキシダーゼ)からなる。参照電極は銀/塩化銀にすることができる。肩部(くぼみの各端に1つ)は、小さい長円形ブローベ サイズのために針を組織を通して、例えば静脈に通す際、電極被覆を保護する。

本発明の他の観点では、溶解基質の混合物にお

ける所定溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサを形成することであり、このタイプのセンサは電極にかかる基質の触媒酵素、および電荷を電極に輸送して参照電極に対する読取り信号を生じさせるメディエータ化合物を被着して参照電極を感受性電極に対して適当な参照電極材料で包囲、絶縁または被覆する金属針とする。例えば銀、金または銀/パラジウム合金を挙げることができる。

本発明のこの観点における特定形状では、感受性(第1)電極を前記酵素およびメディエータを含む被覆を有する炭素繊維である。

#### C. 二重容量センサ(dual capacity sensors)

ある種のセンサの構造は外部試料(extraneous sample)に浸漬でき、または針内に用いることができる。

この1例としては、溶解基質を選択的に検出、測定またはモニターするセンサであり、このタイプのセンサは電極に基質の触媒酵素、および電荷を電極に輸送し参照電極に対す読取り信号を生じ

させるメディエータ化合物を被着し、感受性電極および参照電極を長方形断面の細長い非導電性支持体の対向面に配置するように構成する。この観点において、通常、断面を極めて小さく、例えば0.5mm以下のエッジ長さの正方形にし、このためにセンサを針の孔に位置することができる。また、針/センサ組合せは本発明の1つの観点である。

本発明の他の観点は、上述する一般的なタイプのセンサを製造する方法にあり、この場合に感受性電極および参照電極を分離しうる支持体に別々に形成し、これらの支持体を最終的に一体にしてセンサに形成する。針を固定するために極めて薄い長い支持体は実用的に有利である。

このために、かかる電極は特に小型に形成することができる。代表的には、電極はインシュリン注射糖尿病患者に対してすでに知られている中空針、例えば27-ゲージ針に固定することができる。このために、差込み部材が著しい不快感を与えないから永久または反永久なモニター配置を達成することができる。



## D. 組立センサ

一般的に、本発明は永久支持体ストリップに形成したセンサに指向する。しかしながら、本発明の範囲では1個の細長い電極に連通する細長いくぼみ、導電支持体上の酵素および電荷輸送メディエータからなる第1電極および参照電極である第2電極を含む2部分セル組立体の構成を包含し、上記部分是对向するくぼみで合体した場合に離間して位置する電極間に液体チャネルを画成し、これによって組合せがチャネルを通る酵素の基質に対して敏感であるように構成する。

更に、本発明は上記センサを使用する装置に関する。装置は携帯用に、または卓上用(desk-top)に形成することができる。

本発明のこの観点の1例として、上記電極を、医者または看護者によりまたは自己測定基準において患者により人体または家畜用医薬に用いることのできる選択生理学的パラメータに関連する与えられた視覚読取りに利用する装置を構成する。

便宜上、本明細書においては代表例として血液

ーグルコース測定装置について説明するが、しかし本発明はこの装置に制限するものではない。糖尿病患者においては、しばしばそのグルコースレベルを測定する必要がある。従来、個々の患者について行われている通常の方法は血液または尿試料を用いる比色試験であり、この場合かかる試料を比較区域に隣接する色反応検出器を含む表面区域上に被着してグルコースレベルの概算値として色値図表と視覚する色変化を与える。

しかしながら、この方法では次の欠点がある。第1に、特に患者が糖尿病状態のために弱くなった視力を有する場合には、比色変化を評価するのに定量的に困難である。實際上、この問題のために高価な自動比色装置は試験結果の解釈のためにある患者にとって購入する必要が生ずることである。第2に、尿試験より本来的に正確さの要求される血液試験では試験表面をおおうのに十分多量の試料を必要とすることである。第3に、患者が発色時を正確に確認する必要があることである。自己一処理基準において、血液試料は体先端部分

(指、足指、耳たぶ)から採取するから、一般にこれらの試料は簡単な針突き刺しによってえる場合には十分多くない、實際上、圧搾し、すなわち、絞り出したりはマッサージして大きい滴にする。しだいに、先端部分の組織は斯かる処理によってある程度あらかくなり、これによって問題を示す新しい試験位置を見出す。

仮定診断基準において本発明を実施するために、本発明においては小直径のインバシブプローベ電極として、または組織マッサージせずに針突き刺し試験体から自然に生ずる小さい血液小滴を使用できる外部試験電極ストリップとして小スケールの非外傷試験体を用いることができる。これらの例について以下に詳述する。

これらの小スケール電極は1回の使い捨て物品として企てられ、着脱自在に電気回路および読取り装置と組合せて利用することができる。これらの回路および読取り装置は極めて小スケールにするのが好ましい。

従って、本発明においては装置全体にある設計

制限を与える必要のあることを見出した。

本発明の目的は、例えば使用者自体がインバシブプローベを用いるように物理的に、またわ使用者自体の外観により心理的に、使用者に対して非外傷的に使用できる装置を提供することである。

また、本発明の目的は使い捨て電極および永久回路/読取り構成部分の大きさが小さいにもかかわらず少年少女または成人の患者によって組立および分解の容易な装置を提供することである。

また、本発明の他の目的は未熟達者でも観察でき、かつ理解できる表示読取り(display readings)できる装置を提供することである。

また、本発明の他の目的は回路/読取り構成部分をペン/デジタル時計に似ているハウジングに組立できる装置を提供することである。

本発明の1つの観点においては、人体または家畜医薬の助けとなる診断として読取り値を生じさせるのに使用する回路-表示装置の組立体を形成し、細長いペン型の中空ハウジングに収容し、

(a) 前記ハウジングの一端で受ける導電性ソケッ

トおよび前記ハウジングの他端で受ける生理学的試験液体と接触した場合に生理学的パラメータに関連する電気信号を生ずることのできる少なく共1つの着脱自在の試験部材および(b) 前記パラメータに相当する数値を示す前記ハウジングの他端に向うデジタル読取り窓から構成する。また、サーミスタを温度補償のために用いることができる。

本発明が上述するようにペン型の組立体にのみに制限されるものでないばかりか、この組立体を付属試験部材との組合せ、および組立体の互いに関係する部品とワンオフ使用(one-off use) に適当な試験部材とのキットとしての組合せにかなうことが製薬装置の設計技術であれば容易に評価することができる。

本明細書に記載する「ペン型」とは大きさおよび形状においての一般的な制限を意味する。機能条件において、その特性は親指と隣接する1または2本の対向する指との間のソケット近くを人差し指上に載せる、人差し指を超えて突出させ、親

指および指でソケット端の細い制御に害を与えないように細長い本体で保持できるようにする。数値条件においては長さ10~30 cmとし、最大横寸法を0.5 ~ 3 cmとし、好ましくは長さ12~20 cmおよび幅0.8 ~ 1.5 cmとする。一般的には円形または多角形断面にすることができる。各着脱自在の試験部材は上述するヨーロッパ特許出願に記載しているタイプの小スケール酵素-被覆センサ電極であり、特に電極は酵素がグリコース-触媒作用し、これにより糖尿病状態を調べることができる。例えば、糖尿病に対して知られている27-ゲージ針に基因する小型目盛付インバシブプローブを用いることができる。あるいは、また小型で非圧搾血液小滴に作用するような寸法にした平坦な外部スケリップ電極を用いることができる。ソケット配置は種々変えることができる。

本発明の1例では、2個または3個以上のセンサ電極を単一試験部材に組み込むことができる。また、ソケット配置を変えることができる。

一般に、読取り装置は普通のペン/時計形のよ

うな「ペン」の後端部に設けられている通常の7セグメント表示窓である。上述するマルチプルセンサの場合には、表示を各センサの不連続回路間で切替えるようにし、表示および単一モニター回路をセンサ間で切替えるようにでき、また特定表示をセンサそれぞれに存在することができる。

勿論、かかる装置は上述する非インバシブストリップセンサと使用するのに特に適応するが、また針・タイプインバシブセンサと用いることができる。

本発明の他の形の装置は、一般に、しかも一般の臨床に使用される、いわゆる卓上用装置である。

この観点において、本発明においては「卓上用」スケールで複雑な開業医用として適当な装置を設けることができると共に、本発明においてかかる装置を代表的なグルコース測定に便利な任意の酵素-触媒作用性化合物(適当な電極システムによる)の使用に向けることができる。

この観点から、本発明は液体混合物の1または2種以上の選択成分の存在を検出、分量を測定お

よびレベルをモニターする分析装置において、

小容積の液体チャンバーと合体結合するセル部分、該セル部分の少なくとも1個には液体入口およびかかる部分を組立てる場合に上記チャンバーと連通する出口を設け；

前記液体混合物を入口装置に流し、かつ連続的にまたは不連続的に出口装置から排出する選択的作動ポンプ；

導電性材料の細い区域の形状を有し、かつ少なくともその外面の酵素および該酵素が触媒作用する場合に電子を電極に輸送するメディエイク化合物の組合せからなる第1電極；

導電性材料の細い区域の形状を有する第2(参照)電極；

前記小容積の液体チャンバー内の作動表面を与える前記各電極；

電極間の予定電圧差を平衡させるポテンシオスタッド；

液体試料をチャンバーに導入する場合に、電極間の電流を検出または測定する装置；および

電流を測定する装置に作動的に接続する信号蓄積および/または読取り装置から構成する。

セルは2部の「パースペックス(PERSPEX)」(登録商標)；硬質ポリメチルメタアクリレートから形成し、シリコン ゴム スペースング ガスケットの中間物とともに締着する。セルは2つの接触面を有し、その一方または両者にくぼみを設けることができ、通常液体流の方向に長くする適当なチャンバーを画成する必要がある場合にはその容積は、例えば0.1 ~ 1.0 ml の範囲で変えることができる。この事は±3%の精度で約1分間連続的に流す代表的なグルコース含有液体試料に対処することができる。液体入口および出口は1つのセル部分または各セルに設けることができる。

測定すべき成分は開業医用としての卓上用グルコース分析計に適用できるグルコースが好ましい。それ故、使用する酵素としてはグルコース オキシダーゼが好ましく(グルコース デヒドロゲナーゼを用いることができる)、この場合フェロセンまたは1,1'-ジメチル フェロセンの如きフ

ェロセン誘導体は好ましいメディエータ化合物である。

支持電極としては炭素または炭素含有混合物から形成されるのが好ましい。登録商標「グラホイル(GRAPHOIL)」または「パピエックス(PAPAYEX)」で知られた炭素箔およびメッシュは、實際上、良好な結果で使用することができる。

他の電極としては電着 AgCl 層を有する銀箔から形成するのが好ましい。

ストリップ電極には各対向面に1個のくぼみを設けることができる。

ポンプは一般にセルにおけるグルコースが触媒作用し、このため読取りが減少するから、測定中連続的に作動する。必要に応じて、ポンプは液体流れを調整しまたは計量する注入装置を作動することができる。

ポシンシオスタッドは、例えば+150mV 対 Ag/AgCl (+150mV vs Ag/AgCl) で炭素電極を保持するようにできる。電流はすべての予想範囲にわたるグルコース濃度に比例する。

グルコース センサの作動において、多くの関連する技術的問題点および利点を考慮することができる。これらの問題点は一般的に関連し、本発明の特定の要旨に制限することを意味するものではなく、換言すれば一般に上述する各例に適用でき、特にグルコース センシングについての装置および方法に関する例に適用することを意味する。

## I. 構造上の特徴

### (a) 電極に対する被膜

酵素電極は液体と電気的に接触させるけれども、センサを大きい分子または組織液体成分との妨害接触から排除するのに効果的であることを確かめた。この事は電極幾何学に影響されるが被覆または包囲膜によって達成できる。この膜としては熱収縮チューブを用いることができる。

膜はその場で重合することができる(例えばセルロース アセテート)。特に効果的な膜はポルカルボネート、特に登録商標「ニュークレオポーラ(NUCLEOPORE)」または「ステリリン(STB

RILIN9)」で販売されているポリカーボネートから形成する。組織流体を調べる場合には、膜にはアスコルビン酸塩を含有することができる。ポリカーボネート膜はアスコルビン酸塩を通さないために、物質からの妨害を事実上除去することができる。あるいは、またポリウレタン膜を使用することができる。

### (b) 炭素のタイプ

登録商標「グラホイル」および「パピエックス」で知られている熱分解等級のストリップとしての炭素箔または金網に付着した炭素はグルコース オキシダーゼと使用する場合の炭素-フェロセン電極に好ましい。酸素妨害は嫌気試料と好気試料との間の信合の変化を4%以下にするように最小にする。また、これらの物理特性は、特に小型装置の製造に極めて有利である。

## II. 作動上の特徴

### (a) 作動電位

作動は、存在する他の化学種の酸化によって生ずる妨害を減少するから、+50 ~ +200mV 対

SCEに相当する電位で行う必要がある。

#### (b) 濃度範囲

炭素-フェロセン電極上に固定した場合には、グルコース オキシダーゼは0~40mMのグルコース濃度をモニターするのに用いることができ、およびグルコース デヒドロゲナーゼは0~20mMの濃度をモニターするのに用いることができる。センサ応答は約40mMまで直線である。(c)

#### 応答時間

膜を設けないグルコース オキシダーゼ センサは95%の定常電流応答に対して高速応答時間、例えば約20秒を与えるように活動的に制限する。

#### (d) 酸素感受性

グルコース/デヒドロゲナーゼ/フェロセン電極は完全に酸素感受性である。

#### (e) 第三電極の使用

實際上、現実的な装置は後述するように参照対極としてAg/AgClを用いることによって第三電極を用いずに良好な性能を達成する。

#### (f) pHおよび温度

グルコース オキシダーゼ電極はpH 6とpH 9との範囲で電流出力の変化を示さず、このために比較的pH-非感受性である。また、これらの電極は40℃までの温度に対して安定である。必要に応じて、温度補償をサーミスタを用いて行うことができ、また恒温ジャケットを用いることができる。また、電極で作動する場合には、拡散制限が温度作用を小さくする。(g) 電極の貯蔵

電極は湿気貯蔵することができる。幾月または幾年にわたる長期間貯蔵は凍結乾燥または空気乾燥によって達成することができる。

上述するように、本発明を使用装置について説明したけれども、本発明は他の特徴を包含している。装置は着脱自在または使い捨てセルを包含することができる。それ故、上述するセル自体本発明の1つの特徴であり、セル設計の細部に関係なく電極および個々の電極の新規な配置に組合せることができる。また、上述する装置セルまたは電極

セルを用いて液体混合物（例えば、組織流体またはこれから誘導した液体）の1または2種以上の所望成分（例えば、グルコース）の存在を検出、分量を測定またはレベルをモニターする方法は本発明の1つの特徴である。

最後に、本発明は上述する装置を作動する電気回路に関する。

本発明のこの観点において、本発明は電極の電気出力を電子基準と比較する装置および電極の電気出力に関する信号を生じさせる装置からなる電子輸送電極と使用する測定装置を提供する。

参照電極のセルより、むしろ電子基準を使用することによって、電子輸送電極を含むセンサを用いる測定を基準として分離電極を用いず行うことができる。

本発明の好適例においては、電子輸送電極は固定電位において参照電極と平衡し、電子輸送電極における電流を測定することができる。

特定の電子輸送電極は次ぎに示す電極の範囲から選択することができる：

酵 素	基 質
<u>フラボプロテイン</u>	
ビルビン酸塩オキシダーゼ	ビルビン酸塩
L-アミノ酸 オキシダーゼ	L-アミノ酸
アルデヒド オキシダーゼ	アルデヒド
キサンチン オキシダーゼ	キサンチン
グルコース オキシダーゼ	グルコース
グリコレート オキシダーゼ	グリコレート
サルコシン オキシダーゼ	サルコシン
乳酸塩 オキシダーゼ	乳酸塩
グルタチオン レダクターゼ	NAD(P)H
リポアミド デヒドロゲナーゼ	NADH
<u>PQQ酵素</u>	
グルコース デヒドロゲナーゼ	グルコース
メタノール デヒドロゲナーゼ	メタノール及び他のアルコール
メチルアミン デヒドロゲナーゼ	メチルアミン

#### ヘム含有酵素

乳酸塩 デヒドロゲナーゼ 乳酸塩  
 (酵素シトクロム B<sub>2</sub>)  
 ホルスターデン(horse-radish) 過酸化水素  
 パーオキシダーゼ  
 酵素シトクロム C  
 パーオキシダーゼ 過酸化水素  
 メタロフラボプロテイン  
 二酸化炭素 二酸化炭素  
 オキシド レダクターゼ  
 キュプロプロテイン  
 ガラクトース オキシダーゼ ガラクトース

次に、本発明を添付図面について説明する。

9.5 × 4.0 × 1.6 mmのエポキシ ガラス ストリップ1に1mm直径の2個の孔2および3を設ける。このストリップ1の側面上においてその端部近くで孔2上に9 × 9 mmの黒鉛テープまたは箔片4を、および孔3上に4 × 9 mmの銀箔ストリップ5を接着する。これらの各電極材料4および5と電気的に接続するためにストリップ1の背面に配置した針金6および7(第2図参照)を上記孔2および3のそれぞれに入れ、導電性エポキシ樹

脂8でこれらの各孔に接着する。エポキシ樹脂の安定化層9をストリップ1の背面の少なくとも1部分上に存在させて針金6および7をその場に固定する。炭素電極4を1,1'-ジメチルフェロセンおよびグルコース オキシダーゼで被覆する。銀電極5を塩化銀で被覆する。

ストリップは次のようにして作ることができる

(a) エポキシ ガラス ストリップ1に孔2および3を開け、

(b) 電極4および5上に登録商標「アララルデテ (ARALDITE)」エポキシ樹脂を接着するが、しかし孔2および3に入れないようにし、

(c) 針金6および7を導電性エポキシ8を設けて付着し、「アララルデテ」樹脂9を被着して各針金をその場に固定し、

(d) 銀電極を5 Mにおいて+400mV 対SCE に10~15秒間保持して薄いAgCl層を堆積し、

(e) 1,1'-ジメチルフェロセン(4g)をトルエン(20 mg/ml)に溶解した溶液を黒鉛テープ4に被着し、蒸発し、

(f) フェロセン-被覆テープ50μlのカルボジイミドpH4.5 アセテート緩衝剤において1~1/2 時間にわたって被覆し、および

(g) (f) での被覆テープをゆすぎ、このテープをグルコース オキシダーゼ(12.5 mg/ml)でpH5.5 アセテート緩衝剤において2時間にわたって被覆する。

ストリップは、針金6および7を電極4における電位を+150mV 対 Ag/AgClで平衡するポテンシオスタッドに取付け、ストリップをグルコース含有溶液に浸漬して使用することができ、このために両電極4および5を被覆する。ストリップのこの形は処理しやすい。電極はグルコース濃度に比例させる。

第3図は先端11を有し、かつ図に示すように湾曲面からカットし、かつ針本体から絶縁した小区域12および大区域13を有する27ゲージ(0.3 mm)針10を示している。区域12は銀で被覆して基準銀-塩化銀電位を形成する。区域13は最初に炭素で被覆し、しかる後フェロセンの如きメディエィタ

化合物で、およびグルコース-感受性酵素、例えば細菌グルコース デヒドロゲナーゼで被覆する。この被覆上に必要に応じて保護膜を被覆することができる。くぼみ区域13は正確に規定された大きさの区域であり、針を組織に突き刺す際、肩部12a および13a はこれらの間に位置するそれぞれの堆積物を保護する。

付着導電線14および15は針10に沿ってその端部にわたり互いに分離して通し、これら導線の長さは正確にする必要はないが、ただしこれら導線は互いに接触しないようにし、かつこれら導線はヘッド16が第13a および13b 図に示すように接続ソケット キャビティに位置する場合に一通路のまわりで接触しないようにする。導線14および15は針本体から絶縁する。

第4図は、例えばセラミック材料または印刷回路ボード積層体から形成したストリップ電極17を示している。この電極17はコネクタ導線19を有する正方形区域18を含んでおり、この区域18は上述する酵素含有層で被覆する。更に、電極17は小さ

い参照電極区域20および分離コネクタ導線21を含んでいる。電極17の後端22は第13a および第13b 図に示すようにソケットに掛合する。針10と関連して、電極ストリップ17は小スケール装置である。それ故、正方形区域18は通常の診断試験の2つのシュワレ (square) 比色試験区域のそれぞれの長さの約半分の横長さであり、正方形区域全体を覆うのに適当であり、かつ参照電極区域20と電気的に連通する針突き刺し装置からの本来の非圧搾血液ピーズを用いることができる。

第3および4図に示す構造の変形としては、例えば第4図に示すストリップ電極を長くすることができ、これによって電極18および20をストリップに沿い二分の一の部分にだけ位置させて遊端22aを残留させ、電極に損傷を与えることなく、また触れることなく患者が容易に取扱うことができるようにする。また、電極ストリップは2個の対向接触体または弾性締付体31内にクリップすることができ、これによって導線19および21の通路を互いに変える。

ス アセテート (またはポリウレタン) の半透過性膜を被覆して種が電極との接触により著しく妨害されないようにする。

かように形成された小スケールの電極はそれ自体で使用するができるが、しかし終局の注射の場合と同様にインバシブ部材を用いて血液—グルコース読取りを与える標準ゲージ針に組合せて用いるのが特に効果的である。

かかる小スケールの針を作る場合には、工程の正確な順序を変えることができる。例えば、先づ黒鉛を塗布し、次いでこの黒鉛にメディエイト (フェロセンなど) をトルエンに溶解した溶液を浸漬により被着する。また、酵素を吸着のために溶液に加えることができる。この場合、参照電極、例えば銀/パラジウムが使用する溶剤または溶質により悪影響を受ける危険がある。

第8図はこれらの微小電極の製造に有利に使用できる手順の基本ステップを示している。

参照電極37およびその導電性リード ストリップ38をテフロン ベース39上の銀/パラジウムに

第5図は長いストリップを示しており、第6図は2個の弾性金属接触ストリップ間に保持するストリップの内端を示している。

第7図には2 cm長さおよび0.3 mm<sup>2</sup> 横断面の電気絶縁性重合体、例えば「マイラー」または「テフロン」本体を示しており、この正面にパラジウム—銀導電性電極31および背面に点線で示す小さい第2電線32を設ける。いずれの場合においても、導線33および34のそれぞれは電極と同時に形成する。

正面電極31上には、トルエンおよび1,1'-ジメチル フェロセンの溶液とトルエンおよび黒鉛のスラリーとを混合して作ったトルエン、1,1'-ジメチル フェロセンおよび黒鉛の混合物をプリントする。フェロセンは黒鉛粒子に吸着される。乾燥後、混合物は層35を形成する。次いで、この黒鉛表面上にグルコース オキシダーゼ層36を既知のカルボンジイミド固定によって固定する (また、酵素吸着を用いることができる)。次いで、電極の両側面に図面に示していないセルロー

成形する。同様に、電極支持体40およびリード ストリップ41をテフロン ベース42上の銀/パラジウムに形成する。次いで、このベース42およびその電極支持体だけには(a) トルエンの黒鉛スラリーにプリントし、(b) トルエンの1,1'-ジメチルフェロセン溶液に浸漬し、および(c) 酵素と接触させて活性層43に例えばグルコースオキシダーゼを吸着させる。しかる後、ベース39および42を平衡にならべて接着または保持する。一般に、ベースを矩形断面にする場合には、ベースを正確に配置しやすい。

上述するように、完成組立体は、例えば電極平面近くの特別の接近部分により針孔の内側に配置することができる。

このようにして電極を分離することは、第9図に示すようなさらに他の配置状態にすることができる。この場合においては、ベース42及びその付着導電性支持体40並びに活性層43を針45の穿孔44内に、絶縁性接着剤により46及び47の箇所で、電気絶縁状態に取り付ける。ベース42の末端の非被覆自由空間42aによりこのような取付を容易とするので有利である。また、液体流通に悪影響を及ぼさない任意の電気絶縁性固定手段を同様に用いることができる。

この例における針45は、参照電極として作用するから適当な参照物質、例えば銀/パラジウム、銀、金などで作るか、または被覆するようにする。銀被覆は塩化物イオンと電気化学めっきしてAg/AgCl参照電極を作ることができる。

電極は針に対し長手方向に固定する必要はない。すなわち、電極は挿入中針45内に位置することができ、針45の部分的引出により例えば(突出)電極部分で間質流体に曝されることになる。

針金は直径50 $\mu$ mのものが典型的である。針金

は次に記載するように浸漬被覆処理などにより、表面被覆することができる:

- I. 有機溶剤(例えばアセトン)の混合液中にコロイド状炭素、フェロセンおよび緩衝剤中のグルコースオキシダーゼを懸濁したコロイド状懸濁液を用いて針金を浸漬被覆する。
- II. セルロースアセテート、ポリウレタンまたは他の適当な溶剤のような膜を用いて針金を浸漬被覆する。

或いはまた、炭素物質を全く使用しないでフェロセンを金表面に直接結合することができる。この処理の場合には、適当なフェロセンをチオール置換する。次いで、交差結合したグルコースオキシダーゼのマトリックスを緩衝剤中のグルコースオキシダーゼおよびグルタルアルデヒドの溶液中に電極を浸漬し、上記処理IIに記載すると同様に行って形成することができる。

第10図は上記第9図の他の変形の構造例について示している。炭素繊維48を、(a) フェロセンのトルエン溶液中に浸漬し;(b) 所定溶液に浸漬し、

カルボジイミドを用いてその表面上にグルコースオキシダーゼを不働化し;および(c) 再び部分49でセルロースアセテート中に浸漬する。また、ポリウレタン膜または酵素吸着を用いることもできる。再び、第9図に示すように、炭素繊維48は、例えば絶縁性支持体50上に、場合によっては血管接近ポートとして適当なポート51を用いて参照電極針45内に装着することができる。

第11図は後に第15図によってさらに詳述する貫通流セル(throughflow cell)を2分した各部分を示している。この図面に示す装置に付している符号は第15図に示すと同じ符号を示し、これについて次に説明する。セルは各はんぶの部分61aおよび61b上に細長い浅いくぼみ64および68を設け、而くぼみ64および68はセルを組み立てたときにスペーサ63と共に作動質を画成する。

くぼみ64内には、登録商標「グラホイル」で市販されているカーボンのストリップ65を配設する。炭素ストリップ65は、部分65aでトルエン溶液から堆積した1,1'-ジメチルフエロセン層により

被覆され、部分65bでカルボジイミドにより結合された酵素グルコースオキシダーゼにより被覆されている。くぼみ64は炭素ストリップ65を、くぼみ68内に保持した銀箔ストリップ72に対向して保持する。この銀箔ストリップ72は表面に塩化銀層73を有している。かようにして、活性電極と参照電極が別個の分離した部材上に存在しても、或る所定の相対的電極構成を最小長さのセンサ電極によって達成することができる。

セル61のその他の説明と使用時の環境状態については第14~15図について説明する。

第12図は第7図に示す0.3平方mmの基本的電極の電気化学的特性を示す曲線を示し、一般に他の電極も同様の特性を有する。

最初に、黒鉛粉末と結合剤とのトルエン溶液を「フェランティ(Ferranti)により供給された」白金-銀合金導体31に塗布し、乾燥する。曲線(a)は100mM 磷酸塩-過塩素酸塩電解液中のpH7.0における電極の直流サイクリックボルタモグラムの示している。電極は-300mV~+500mV(対SCB)の

範囲の電位を表示する。この挙動は従来の黒鉛電極に類似している。電極表面は機械的に十分な強度を有し、応答に悪影響を与えることなくアルミナ-水スラリーで磨くことができた。

#### 参 照 電 極

飽和カロメル電極(SCE)を用いて予め検量しておいた電気化学システムを使用して、(ストリップ内に組込まれた)パラジウム-銀参照電極32の基準電位を定めた。この基準電位はSCEに対して-60mVであったので、グルコースセンサは160+200mV(対Ag/Pt)で作動させる必要がある。この基準電位は安定であり、すなわち48時間にわたる作動の間、変動を生じなかった。

#### 黒鉛電極の電気化学的応答

曲線(b)は黒鉛電極により記録したフエロセンモノカルボン酸の直流ボルタモグラムの示している。

曲線(c)はグルコース及びグルコースオキシダーゼをフエロセンモノカルボン酸溶液に添加した時に生ずるグルコースの電解酸化を示している。

更に、これらの曲線は、この黒鉛電極がグルコースセンサ装置の基本となることを示している。

#### 1,1'-ジメチルフエロセンの電極への添加

1,1'-ジメチルフエロセンのトルエン溶液を黒鉛粉末のトルエン・ペースドスラリーと混合し、この混合物を基本導体31に塗布し、35で乾燥した。この形成した電極表面はグルコースオキシダーゼに対して電気的に活性であった。

#### 結 論

以上の実験から次の事がわかる。すなわち、「厚い層」、換言すればスクリーン印刷技術によれば、安定な黒鉛表面を容易に被覆できるペースストリップを形成することができ、さらに被覆混合物にフエロセンを直接吸着させることによって電極表面をグルコースに対して電気的に活性にすることができる。更に、この参照電極は緩衝溶液中で満足に作動する。

第13aおよび13b図は、第4、5および第6図に示す電極を使用するのに適したホルダーを示しているが、必要に応じて第1、2、3、7および

8図に示す電極を使用することもできる。

上述するように、ホルダー81はできるだけ従来のペン/ウォッチに類似させる。ホルダー81の前方端部82内には平坦なソケットキャビティ83を設け、この壁にコネクタ端子を回転自在に固定しうるようにする。中心接合部、クリップ84および押しボタン85をすべて従来のペンおよび押しボタンに類似させ、デジタル読取り窓86もペン/ウォッチに用いられる公知のタイプによる。

ホルダーの内部には点線で示すように、できればその場に印刷した接続回路87を設け、その背後に電池88および演算回路89を一体に取り付け、更に表示窓86をとりつける。必要に応じて表示装置には、ボタン85を押した時だけ作動し、特別な照明が得られる様にする事ができる。

第13aおよび13b図に示す例は、第4-6図に示す電極と共に使用した時に、この様な携帯様装置に対して上記した設計基準を満足する。

ペンクリップによりこまかい操作ができることは第4、5および6図に示す小型電極を容易にソ

ケットに装着したり、またはソケットから取り外すことができることを意味する。使用者は、常にホルダーの窓86が見えるように位置し、ソケット83を常に一定の相対的位置に保つようにし、弱い電極の後方端部を破損しないように嵌合させることができる。

この「ペン」型装置は使用後、他のいかなる小型装置よりも安全にポケットに入れて携帯することができる。それ故、装置の大部分は安全に保護することができる。更に従来のタイマー回路をこの装置に組み込むことができ、その結果、ペン型装置の実際の機能を行わせ、読み取りを行うべき時刻を指示する音の信号または目に見える信号を発生するようにできる。

最後に、表示は数字により、はっきりと目に見えるように表示でき、必要に応じて照明電源により不足を補うことができる。

第14および15図は電極の配置を示す第11図と密接に関係する。2分したセル61は、例えばコーナー部分62でボルト締め(図示せず)している部



分61a および61b からなり、部分61a および61b はシリコンゴム スペース63により離間する。

部分61b には、細長い浅いくぼみ64を内部の面に設け、その底部に「グラホイル」炭素箔のストリップ65を配置する。このストリップ65の外側面には(トルエン溶液から沈積させた)1, 1'-ジメチルフエロセンを被覆し、更にカルボジイミドにより結合された酵素グルコースオキシダーゼを被覆する。このストリップの背面の中心は導線66に接続し、この導線66は部分61a を気密に貫通する。

スペース63の中央に細長い穴67を設け、この穴の周囲はくぼみ64の周囲と一致させる。

半部61b には浅い細長いくぼみ68を設け、この周囲を孔71に一致させる。このくぼみの底部に、予め薄い塩化銀層73を電着した銀箔電極72を配置する。この背面の中心に導線69を接続し、導線69を半部61b中を気密に貫通させる。

部分61b には更に貫通孔70を設け、くぼみの底部と連通させ、貫通孔71をくぼみの頂部と

連通させる。

セルはボルト62により組立て、くぼみ64および68とスペース63の孔67とを合体させ、対向電極によって漏れ止めチャンバーを画成する。セルはポンプ73により加圧される注入装置72(すなわち試料採取用3方弁)に孔70で接続し、液体試料は孔70でセルに圧入され、チャンバー64, 67 および68を経て孔71でセルから排出される。電気的には導線66および69をポテンシオスタッド74に接続し、黒鉛電極を+150mV(対Ag/AgCl)に保ち、試料中のグリコース量に比例する電流値を75に表示する。

第16図においてセンサ101を電圧バッファ102と電流増幅器として用いる演算増幅器104の反転入力端子103との間に配置する。演算増幅器の非反転入力端子106に接続された基準電位(electronic reference)105の電圧は低域フィルタ107に供給し、ここでノイズ、アースハムまたはその他の混信源による信号の急激な変動を除去し、演算増幅器104の濾過出力をデジタル電圧計(D.V.M.)に送る。

デジタル電圧計には、タイマ111からディバイダ109を経てクロックパルスを供給する。デジタル電圧計は液晶表示112を駆動する。基準電位源105の電圧は予め選択した値にすることができ、または特殊な電子移動電極に対して選択できるようにすることができる。

上述した電極の各例では、センサは1種以上の酵素を表面に固定したメディアイタ担持表面からなる。センサは更に銀/塩化銀(Ag/AgCl)内部参照電極を含む。グルコース-オキシダーゼ含有電極の場合のように、例えば+200mVの電圧を電極間で選択的に降下させる時は、基準電圧105をこれに従って選択する。

第17図において歯、基準電位源は抵抗器152, 153 および154 とダイオード151 とから成る。152, 153, 154 の抵抗値を適当に選択して電圧を0.3Vに定める。抵抗器153に加わる電圧は1Vであり、これにより100Aの電極電流が液晶表示109に999のフルスケール読みを与える。

非反転バッファ102は端子101Aにかかる電圧を

ほぼ一定に保つように作用する。センサ1(第1図)を端子101Aと101Bとの間に接続する。

演算増幅器104は、その反転入力端子104を端子101Bとフィードバック抵抗器141とに接続し、その非反転入力端子106を基準電位源に接続する。

第1次低域フィルタ171および172をフィードバック抵抗器141に接続し、アナログ信号をD.V.M. 108に供給する。ピンバリュースは(モトローラ製の)7116チップによって定められた値とする。このD.V.M.は液晶表示112を駆動する。

クロックパルスは、タイマ111(このピンバリュースは555チップによりきまっている)から、ディバイダ191(このピンバリュースはMC140208によりきまっている)および192(このピンバリュースはMC140168によりきまっている)を経てD.V.M.に与えられる。ディバイダ191は、そのピン11への接続193によってパワーアップリセットされる。

第18図は非反転電圧バッファ102を使用しないが、演算増幅器104と大地との間に接続されたセ

ンサ101 を有する回路を示している。第18図に示す例では、第17図に示す回路とことなる回路によって生じる固定基準電圧を使用する。

この例では、ダイオード155 が電圧基準ダイオードとして作用し、ダイオードに向かう電圧に等しいその端を横切る基準電圧降下を生ずる。

抵抗器156, 157 および158 の値を適当に選択することによって正確な電圧を電極間に与えることができる。この例においては、センサは基準としてAg/AgCl カップルを使用し、電子輸送電極としてメディエータ化合物の存在下でグルコースオキシダーゼを固定する。

第19図は本発明の第3 の例を示しており、この例では任意のタイプの電子輸送電極にも適応させることができる連続可変基準電圧を生じさせることができ、すなわち、本明細書に記載した任意の酵素またはそれらの組合せを使用することができる。LBD 表示は第4図には示していない。

第19図において、回路内のフィードバック抵抗器141 はスイッチSW2aによって如何なる時でも

抵抗器141a, 141b および141cから選択できる。スイッチSW2aはスイッチSW2bに連動し、センサ101の電流出力を3種類の範囲、例えば1A, 10Aおよび100Aフルスケール(full scale) で表示する。更に、この範囲は可変抵抗器42a および42b を使用することにより変えることができる。

第19図に示す例は、第17図に示す例における非反転バッファ102 を有している。

第19図に示す例における基準電圧は回路素子501-505 から取り出す。この回路素子501-505 にはセンサ101 を横切る可変電圧を与える電位差計503 および502 を内臓しており、これにより任意の種類の電子輸送電極にも適応することができる。連続式可変抵抗器142aおよび142bを階段的抵抗切換え装置で置き換えることができ、また特殊のタイプの電極に使用できるようにセットすることができる。

上述する回路は種々変えることができる。例えば、液晶表示をプロッターまたは計量制御装置(dosage control device) と置き換えることがで

き、また温度安定回路を加えることができる。

電極の製造において、構造的技術を種々変えることができる。

電極は、例えばスクリーン印刷法、例えば次に示すような多段手順によって製造することができる。

- I. Ag/AgCl 基準電極およびメタル トレーシングのスクリーン印刷。
- II. コロイド状炭素、バッファにおけるグルコース オキシダーゼおよび有機ポリマーを含む印刷インキによる活性電極のフクリン印刷。および
- III. 組立体上に膜を設けるスクリーン印刷、噴霧または浸漬被覆。

この方法の利点は大量生産の自動化が容易であり、かつ再現性が高いことである。

上述することから、液体媒質に炭素と共に、(a) 酵素および/ または酵素が触媒的に作用する場合に酵素から上記炭素に電荷を輸送しうるメディエータ化合物を懸濁した懸沈物を提供することがで

き、上述するように電極の製造に使用するために印刷可能で、かつ導電性インキとして製造する上記懸濁物は本発明の1 つの特徴である。特に、酵素(例えば、グルコース オキシダーゼ) およびメディエータ化合物(例えば、フェロセンまたはフェロセン誘導体) は上記インキの配合物に存在させるのが好ましい。

メディエータはメディエータ/ ハプテン コンジュゲートの形態にすることができ、例えばリガンド材料に結合することができ、このためにその電荷輸送特性におけるその活性を特定インキの被着した電極が接触する特異結合剤との競合結合反応の尺度である。1 つの特定例としては本発明と関連する名称が「特異結合剤を使用する分析システム(assay systems)」の特許出願に記載されているテオフィリン/ フェロセン コンジュゲートである。また、他のメディエータ/ 酵素/ リガンド システムも特定インキに使用することができる。

上記共願の発明には電極処理の変形例を示して

おり、この変形例には金のような金属を硫黄含有結合基を含むフェロセンのようなメディエイト化合物で予め処理している。また、モノチオール、低級アルキレン- オメガ- モノチオール( $C_1 \sim C_6$ )化合物  $Fe-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-SH$  または硫黄原子の鎖がフェロセン環システムと連結する化合物の如き材料の製造例については本発明との共願の発明に記載されている。

この場合、金のような貴金属電極用の電極浸漬または接触溶液は硫黄結合性フェロセンを含有させて生成し、フェロセンタイプの層を被着して被覆電極を形成している。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図はストリップ支持電極構造の正面図、

第2図は第1図に示す電極構造の背面図、

第3図はインバシブ ブローベ電極の斜視図、

第4図は変形構造のストリップ支持電極の斜視図、

第5図は第4図に示す電極の変形構造のストリップ支持電極の斜視図、

第6図は第4および第5図に示すストリップ電極の変形構造の構成部分を分離して示した接続状態を示す説明用線図、

第7図は他の変形構造の支持電極を示す説明用線図、

第8図は2個の電極支持体の組合せ状態を示す説明用線図、

第9図は参照電極きとして作用する第8図に示す構成部分の1個を針内に配置した状態を示す説明用線図、

第10図は電極を形成し、かつ第9図に示すように配置するのに構成する炭素繊維を示す説明用線図、

第11図は離間関係に保持するが、別々に着脱できる2個の細長い電極の組合せ体を示す説明用線図、

第12図は第7～10図に示す電極に対し特定基準により測定した電極の電気性能を示す曲線図、

第13a および13b 図は回路組立および読み取り窓を有する第4, 5 および6 図に示す電極に特別使

用するペン型携帯用ホルダーを示す説明用線図、

第14図は第11図に示す電極組立体を用いて液体試料中のグルコースの如き基質を測定する「卓上用」分析装置の各構成部分を示すブロック図、

第15図は第14図に示す分析装置の1部の構成部分を分離して示す説明用線図、

第16図は本発明の電極および装置を使用して電気回路を形成するブロック図、

第17図は第16図のブロック回路を用いて形成した電気回路図、

第18図は第16図の変形例を示すブロック図、および

第19図は本発明の他の変形例を示す電気回路図である。

1 … エポキシガラスストリップ

2, 3 … 孔

4 … 黒鉛テープまたは箔片 (電極)

5 … 銀箔ストリップ (電極)

6, 7 … 針金

8 … 導電性エポキシ樹脂

9 … エポキシ樹脂安定化層

10, 45 … 針

11 … 先端

12, 13 … 区域

12a, 13a … 肩部

14, 15, 19, 21, 33, 34, 66, 69 … 導線

16 … ヘッド

17 … ストリップ電極

18 … 正方形区域 (電極)

20 … 参照電極区域

22 … 遊端

31 … 弾性締付体

32, 37 … 第2 電極 (参照電極)

35 … 層

36 … グルコース オキシダーゼ

38, 41 … 導電性リードストリップ

39, 42 … テフロンベース

40 … 電極支持体

42a … 非被覆自由空間

43 … 活性層

44 … 孔

48 … 炭素繊維

50 … 絶縁性支持体

61 … セル

61a, 61b … 部分

62 … コーナー部分 (ボルト)

63 … スペース

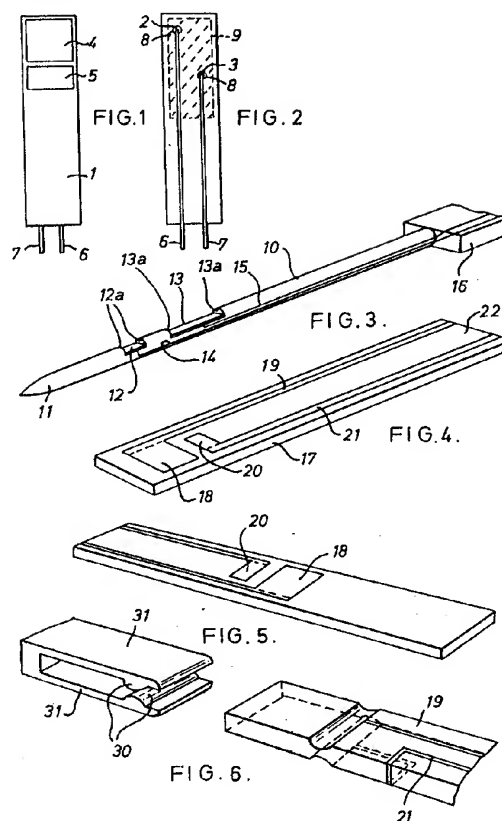
65 … 炭素ストリップ

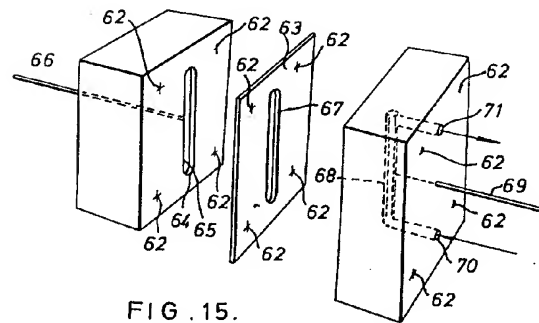
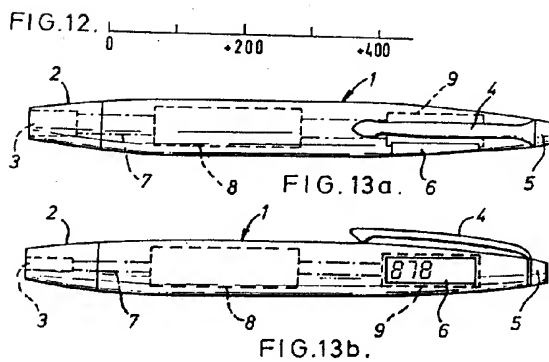
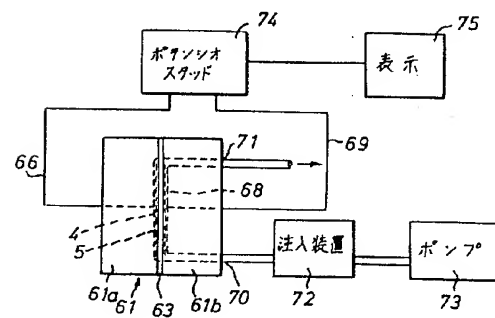
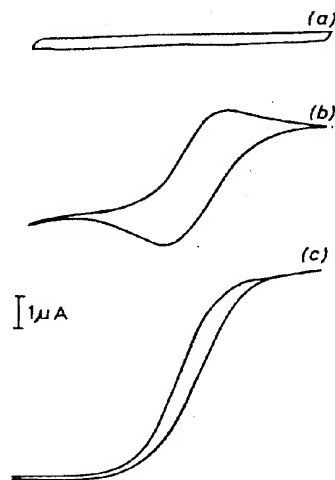
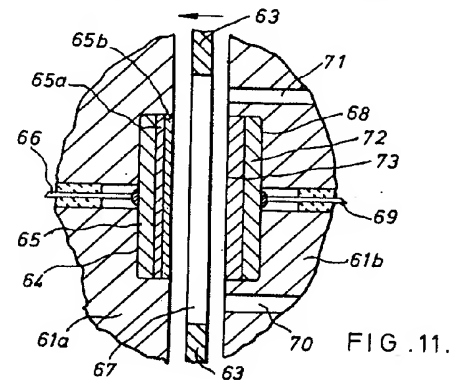
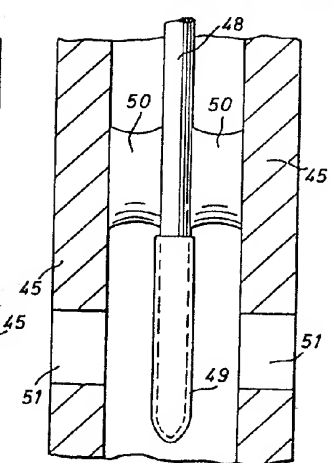
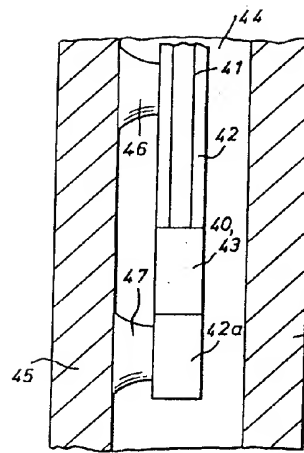
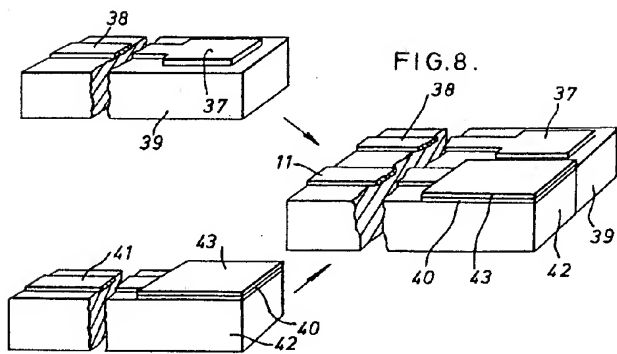
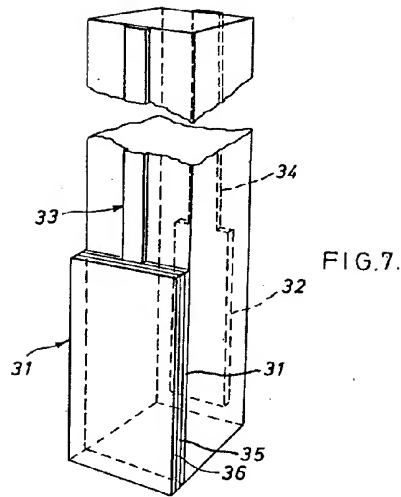
67 … 細長い穴

70, 71 … 貫通孔

- 72…銀箔ストリップ(銀箔電極)  
 73…塩化銀層  
 74…ポテンシオスタッド  
 75…表示  
 81…ホルダー  
 82…前方端部  
 83…ソケットキャビティ  
 84…クリップ  
 85…押しボタン  
 86…読み取り窓(表示窓)  
 87…接続回路  
 88…電池  
 89…演算回路  
 101…センサ  
 102…電圧バッファ  
 103…反転入力端子  
 104…演算増幅器  
 105…基準電位源  
 106…非反転入力端子  
 107, 171, 172…低域フィルタ  
 109, 191, 192…ディバイダ  
 111…タイマ  
 112…表示  
 141…フィードバック抵抗器  
 141a, 141b, 141c, 142a, 142b, 152, 153, 154, 156, 157,  
 158…抵抗器  
 155…ダイオード  
 501, ~505…回路素子  
 502, 503…電位差計  
 SW2a, SW2b…スイッチ。

図面の浄書(内容に変更なし)





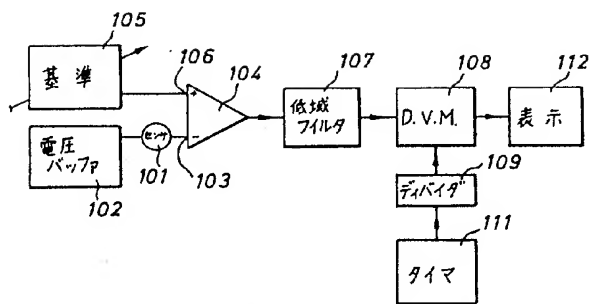


FIG. 16.

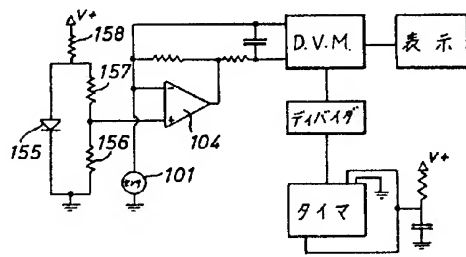


FIG. 18.

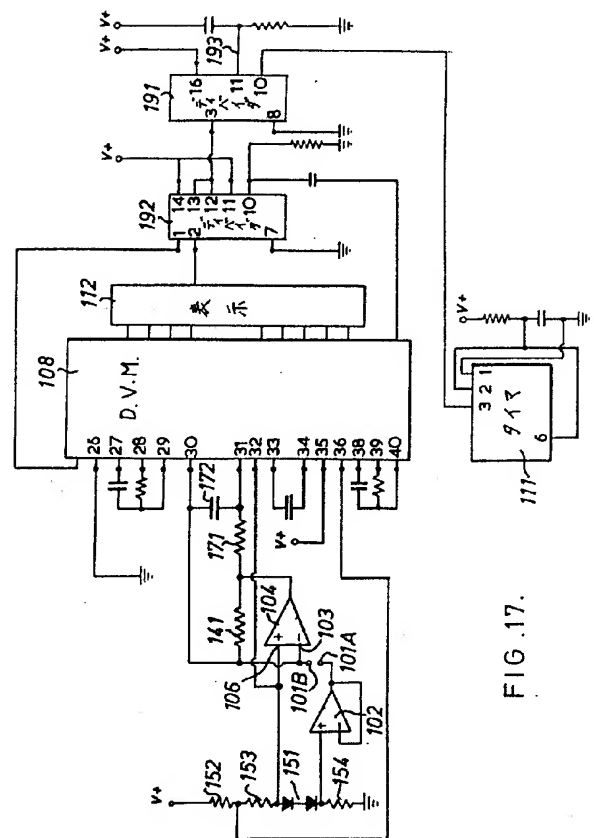


FIG. 17.

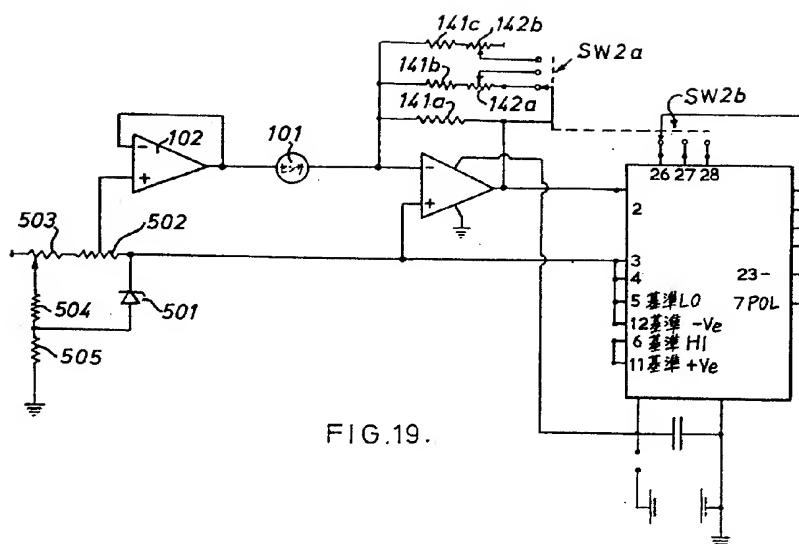


FIG. 19.

## 第1頁の続き

優先権主張 ⑫1983年5月5日⑬イギリス  
(GB)⑭8312262  
⑫1983年9月6日⑬イギリス  
(GB)⑭8323799  
⑫1983年12月16日⑬イギリス  
(GB)⑭8333644  
⑫1984年1月11日⑬イギリス  
(GB)⑭8400650  
⑫1984年2月29日⑬イギリス  
(GB)⑭8405262  
⑫1984年2月29日⑬イギリス  
(GB)⑭8405263

⑫発明者 グラハム・デイビス  
イギリス国ベッドフォード・シ  
ヤー・ゴールデントン・グリ  
ーン・ヘロン・ハイツ6

⑫発明者 ヒュー・アレン・オリバー・ヒ  
ル  
イギリス国オックスフォード・  
オーエツクス2 9 ジエイエツ  
チ・クロバー・クローズ9

⑫発明者 ロン・ツワンジガー  
アメリカ合衆国マサチューセツ  
ツ州02146ブルツクライン・ロ  
ングウッド・アベニュー608-4  
5

⑫発明者 ベルンハード・ルドウイング・  
トレイドル  
アメリカ合衆国マサチューセツ  
ツ州ボストン・メドフィールド  
・ストリート(番地なし)

⑫発明者 ナイジェル・ノーマン・ビルケ  
ツト  
イギリス国ケンブリッジシャー  
・シイ・ビー6 2 ピー・ジー  
・イーリ・サットン・アストレ  
イクローズ2

⑫発明者 エリオット・ベルヌ・プロトキ  
ン  
イギリス国ベッドフォード・エ  
ムケイ43エス・ジー・ジョージ  
・ストリート14

手 続 補 正 書(方式)

昭和59年8月3日

特 許 庁 長 官 志 賀 学 殿

## 1. 事件の表示

昭和59年特許願第 90832号

2. 発明の名称 所定溶解基質を選択的に検出、測定または  
モニターするセンサ装置

3. 補正をする者  
事件との関係 特許出願人

特許庁 名称 ジェネティックス・インターナショナル・  
インコーポレーテッド  
59. 8. 3  
消特二種 人

〒100 東京都千代田区霞が関三丁目2番4号  
霞山ビルディング7階  
電話(581) 2241番(代表)

(5925) 弁理士 杉 村 暁 (秀 外1名) 理士

5. 補正命令の日付 昭和59年7月31日

6. 補正の対象 願書の「特許出願人」の欄、  
委任状および図面

7. 補正の内容(別紙の通り)

図面の浄書(内容に変更なし)

